DOI: 10.22092/VJ.2021.355220.1872
شماره ۱۳۵ تابستان ۱۴۰۱
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

# اپیدمیولوژی و تشخیص ملکولی بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در گاوهای استان لرستان

• **وحید نعمان (نویسنده مسئول)**
بخش تحقیقات بیماریهاي انگلي، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازي رازي، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزي، کرج، ایران
• **مهدی نام‌آوری**
شعبه شیراز، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازي رازي، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزي، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰-۰۴-۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰-۰۶-۲۷
Emali: vnoaman@gmail.com

**چکیده**

**بابزیوزیس یک بیماری منتقله از کنه است که توسط تک‌یاخته‌های خونی جنس بابزیا ایجاد می‌شود. هدف از این مطالعه شناسایی گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در گاوهای استان لرستان بود. در مجموع تعداد ۲۵۸ نمونه خون از طریق ورید وداج گاوهاي به‌ظاهر سالم به‌طور تصادفی اخذ شد. در ابتدا DNA استخراجی از نمونه‌های خونی با جفت آغازگری که قطعه حدود ۴۰۰ جفت بازی از ژن *18S rRNA* جنس بابزیا را تکثیر می‌کرد، تکثیر شد. تمامی نمونه‌های مثبت گاوی با nested-PCR semi اختصاصی از نظر وجود بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس بررسی شدند و آلودگی نمونه‌های گاوی از نظر بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس به ترتیب ۱۷/۸ و ۱۹/۴ درصد تشخیص داده شد. آزمون مربع کای جهت مقایسه میزان شیوع نسبت به اقلیم، ارتفاع از سطح دریا، طول جغرافیایي، عرض جغرافیایي، نوع دامداري از نظر مدیریت، سطح بهداشتي دامداري، حضور کنه روي بدن دام، سم‌پاشي در فصول تکثیر کنه، فاصله با دامداري‌هاي دیگر، تماس با نشخوارکنندگان وحشي، تراکم دام در دامداری، نژاد دام، سن دام و جنس دام انجام شد. در مقایسه فراوانی گونه بابزیا بایجمینا تنها در مورد تراکم دام در دامداری اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P≤۰/۰۵). در مدل لجستیک چند متغیره نوع دامداري و تراکم دام در دام‌داري به‌عنوان مهم‌ترین عوامل خطر در ابتلا به بابزیا بوویس معرفی شدند (P≤۰/۰۱). نتایج این مطالعه می‌تواند در برنامه‌ریزی راهبردی پیشگیری و کنترل بابزیوزیس گاوی در غرب ایران مورد استفاده قرار گیرد.**

**کلمات کلیدی: استان لرستان، ایران، بابزیا بایجمینا، بابزیا بوویس، گاو، تشخیص ملکولی**

Veterinary Researches & Biological Products No 135 pp: 57-68

**Molecular detection and prevalence of *B. bigemina* and *B. bovis* in cattle in Lorestan province, Iran**

*By: Noaman V., (Corresponding Author) Department of Parasitic Disease Research, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. and Namavari M., Shiraz Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.*

**Received: 2021-07-12** **Accepted: 2021-09-18**

Emali: vnoaman@gmail.com

Babesiosis is a tick-borne disease caused by protozoa of the genus *Babesia*. This study aimed to determine the *B. bigemina* and *B. bovis* among cattle of Lorestan Province. A total of 258 blood samples were collected via the jugular vein from healthy cattle, randomly. The extracted DNA from blood cells was amplified by Babesia-all primers, which amplify an approximately 400bp DNA fragment from the region of the *18S rRNA* gene from various members of the genus *Babesia*. All cattle positive samples were further analysed for the presence of *B. bigemina* and *B. bovis* by specific semi-nested PCR. *B. bigemina* and *B. bovis* were identified by specific semi-nested PCR in 17.8% and 19.4% of cattle blood samples, respectively. Chi-square tests were used to compare molecular prevalence values relative to climate, altitude, longitude, latitude, farm type, hygiene, vectors, use of acaricide, distance from other farms, contact with wild ruminants, farm density, race, age, and sex were recorded for each animal. Among these factors, a significant association was only found between the prev-alence of *B. bigemina* infection and farm density ($P< 0.05$). Multivariable logistic regression analysis revealed that farm type and farm density were significant risk factors for *B. bovis* infection in cattle of Lorestan province ($P< 0.01$). The results of this study can be used in strategic planning for the prevention and control of bovine babesiosis in dairy cattle in the west of Iran.

**Keywords:** Iran, Lorestan Province, *B. bigemina*, *B. bovis*, Cattle, Molecular detection

## مقدمه

بابزیوزیس بیماری انگلی مشترك بین انسان و حیوانات است که با نام‌های، تب کنه‌ای، پیروپلاسموزیس، تب طحال، تب قرمز و تب تکزاس شناخته می‌شود. بابزیوزیس که توسط گونه‌های متفاوت تک‌یاخته جنس بابزیا ایجاد می‌شود در گروه وسیعی از مهره‌داران به‌خصوص نشخوارکنندگان اعم از اهلی و وحشی، تک‌سمی‌ها، سگ‌سانان، گربه‌سانان، جوندگان، پرندگان و حتی انسان در بسیاری از نقاط دنیا گسترش دارد (۳۳, ۳۴). اولین مورد بابزیوزیس در گاوهای تب‌دار توسط ویکتور بابز در سال ۱۸۸۸ گزارش شد و هم‌چنین اولین مورد آلودگی انسان در سال ۱۹۵۷ در یوگسلاوی تشخیص داده شد. تا سال ۱۹۹۵ بیش از ۴۰۰ مورد انسانی از آمریکا و سایر نقاط جهان گزارش شد که بیش‌ترین گزارش‌های انسانی مربوط به بابزیا میکروتی است و سایر گونه‌های مشترک که انسان را آلوده می‌کنند شامل بابزیا دایورجنس، بابزیا اکوئی، بابزیا دونکانی، بابزیا اوویس، بابزیا کابالی و بابزیا بوویس می‌باشند (۶). انتقال این انگل توسط کنه‌های سخت از خانواده ایکسودیده انجام می شود (۳۲). علائم بیماری در میزبان مهره‌دار شامل: افزایش ناگهانی درجه حرارت بی‌قراری، ضعف و لاغری و کاهش اشتها، کم‌خونی شدید و انهدام گلبول‌های قرمز و وجود هموگلوبین در ادرار است(۶).

گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس از گونه‌های شناخته‌شده بابزیای گاوی در دنیا می‌باشند که بیماری حاصل از این دو گونه در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مانند آمریکای مرکزی و جنوبی، شمال و جنوب آفریقا، استرالیا و جنوب اروپا و مناطق خاورمیانه دیده می‌شود (۴۰). در ایران بیماري حاصل از گونه‌هاي بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس و بابزیا اکلتنس در گاو مشاهده شده است(۲۸).

مشاهده میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا، متداول‌ترین روش در تشخیص بابزیوزیس به فرم حاد است، اما به دلیل حساسیت پایین این روش در مواردی که تعداد کمی از گلبول‌های قرمز آلوده باشند، استفاده از آن در مطالعات همه‌گیرشناسی محدودشده است. علاوه بر این علائم بالینی بابزیوزیس بدون هموگلوبینوری مشابه تیلریوزیس است و تفریق اشکال گرد و کوچک بابزیا با اشکال پیروپلاسمایی تیلریا در گسترش خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا نیاز به مهارت و تجربه آزمایشگر دارد (۳۰). آزمون‌های سرولوژی متفاوتی در مطالعات همه‌گیرشناسی بابزیوزیس در کشورهای مختلف استفاده‌شده‌اند در اکثر این روش‌ها واکنش متقاطع گونه‌های بابزیا قابل‌تفریق نیست و علاوه بر این، نتایج منفی و مثبت کاذب نیز عموماً در این آزمون‌ها مشاهده می‌شود. از طرفی روش‌های سرمی در شناسایي فاز اولیه عفونت و عفونت‌های مزمن (دام‌های حامل با تعداد پایین انگل در خون) محدودیت دارند (۷). شناسایی دام‌های حامل بابزیا اهمیت

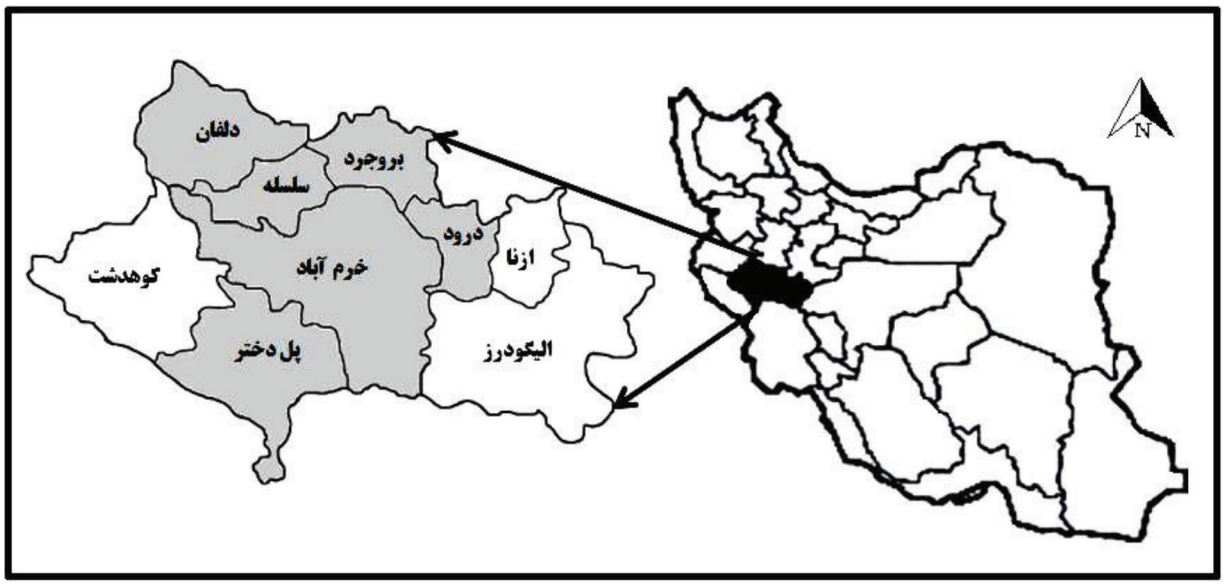
خاصی در کنترل و پیشگیری بیماری دارد زیرا این دام‌ها به‌عنوان مخزن، در انتقال آلودگی به دام‌های حساس بسیار اهمیت دارند. تحقیقات اخیر، حساسیت و ویژگی بالاتر روش‌های ملکولی را در شناسایی انگل‌های خونی نسبت به روش‌های سرولوژیکی و میکروسکوپی نشان داده‌اند. روش‌های مولکولی همچون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) علاوه بر تشخیص دقیق گونه‌ها تمایز گونه‌ای را نیز امکان‌پذیر ساخته‌اند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در تشخیص آلودگی به گونه‌های بابزیا، ۱۰۰ برابر حساس‌تر از تشخیص میکروسکوپیک است(۲۳). حساسیت و ویژگی بالای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز سبب شده است که این روش برای تأیید نتایج حاصل از آزمون‌های تشخیصی دیگر و تأیید سلامت دام برای صادرات، به‌کاربرده شود (۵). اغلب مطالعات انجام‌شده در خصوص شناسایی انگل بابزیا و بابزیوزیس در ایران عمدتاً معطوف به نشخوارکنندگان کوچک بوده است و در اکثر این بررسی‌ها شناسایی انگل بر اساس مشاهده میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده انجام‌شده است. در بررسی‌های انجام‌شده در ۱۰ سال اخیر انگل بابزیا در گاوهای استان‌های کردستان، چهارمحال و بختیاری، آذربایجان غربی و اصفهان با روش‌های ملکولی و میکروسکوپی شناسایی‌شده است (۲۱). از آنجاکه تاکنون مطالعه جامعي در خصوص شناسايي انگل بابزيا در گاوهاي استان لرستان انجام نشده است لذا این تحقیق باهدف شناسايي ملکولی گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در جمعیت گاوهای سنتی و نیمه‌صنعتی استان لرستان انجام گرفت.

## مواد و روش کار

### جامعه آماری و روش نمونه‌گیری

مطالعه به‌صورت مقطعی بر روی ۲۵۸ گاو در گاوداری‌های نیمه‌صنعتی و سنتی استان لرستان در شهرستان‌هاي خرم‌آباد، بروجرد، دورود، پلدختر دلفان و سلسله با همکاري اداره کل دامپزشکی استان لرستان در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت (شکل ۱). نمونه‌گیری به‌صورت تصادفي از ۵۰ گاوداری (۱۳ گاوداری سنتی و ۳۸ گاوداری نیمه‌صنعتی) انجام و از هر دامداری حداقل از پنج گاو نمونه‌برداری انجام شد. از هر گاو دو میلی‌لیتر خون از ورید وداج در لوله حاوی ماده ضد انعقاد و همچنین پرسشنامه‌ای برای هر نمونه اخذ شد و نمونه‌های خون در کنار یخ به آزمایشگاه انگل‌شناسی و بیولوژي ملکولي تحویل شدند.

در هر مورد بازدید و نمونه‌گیری اطلاعاتي شامل نام دامدار، روستا/ منطقه، تعداد دام، کد دام، اقلیم، ارتفاع از سطح دریا (متر)، طول جغرافیایي (درجه)، عرض جغرافیایي(درجه)، نوع دامداري از نظر مدیریت (به دامداری‌هایی که اصول علمي به‌طور نسبي در ساخت‌وساز ساختمان‌ها و تأسیسات آن‌ها اعمال‌شده و داراي ماشین‌آلات و تجهیزات در حد رفع نیازهاي اساسي خود می‌باشند دامداري نیمه‌صنعتی و به دامداری‌هایی که بدون اصول علم دام‌پروری در داخل و حاشیه روستا احداث گردیده‌اند دامداري سنتي گویند) بر اساس مستندات مدیریت دام جهاد کشاورزي استان لرستان (نیمه‌صنعتی، سنتي)، سطح بهداشتي دامداري (شامل بهداشت جایگاه، بهداشت شیردوشي و پستان، بهداشت زایشگاه و زایمان، بهداشت گوساله‌داني، بهداشت انبار علوفه، بهداشت آب، انجام برنامه‌های کنترل و پیشگیري از بیماری‌های عفوني و انگلي) بر اساس مستندات و ضوابط اداره کل دامپزشکي استان لرستان (خوب، پایین)، حضور کنه روي بدن دام (بله، خیر) بر اساس مشاهده و گفته دامدار، سم پاشي در فصول تکثیر کنه (بله، خیر)، فاصله با دامداري‌هاي دیگر (یك کیلومتر و کمتر، بیش از یك کیلومتر)، تماس با نشخوارکنندگان وحشي(بله، خیر)، تراکم در دامداري بر اساس تعداد دام به مترمربع فضاي دامداري (پایین=بیش از




شکل ۱-موقعیت جغرافیایي استان لرستان در ایران و شهرستان‌هاي نمونه‌گیري شده.

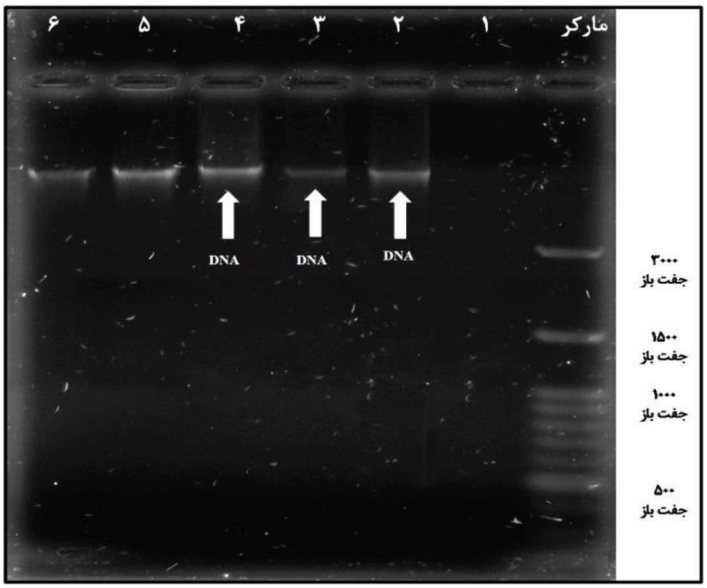
۶ متر مربع به ازاي هر گاو، بالا= کمتر از ۶ متر مربع به ازاي هر گاو)، نژاد دام (دورگ، بومي) سن دام بر اساس گفته دامدار (۱-۳ سال، بیش از ۳ سال)، جنس دام بر اساس مشاهده (نر، ماده)، در فرم مربوطه ثبت و شماره فرم بر روی کلیه لوله‌ها درج می‌شد. کلیه نمونه‌ها در فصل گرم سال(انتهاي بهار و تابستان) اخذ شدند.

## استخراج DNA از خون

به‌منظور به دست آوردن ماده ژنتیکی برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در این تحقیق از کیت استخراج DNA خون و بافت شرکت MBST (ایران) و طبق دستورالعمل سازنده استخراج DNA انجام گرفت. جهت تعیین میزان و خلوص DNA استخراجي، چگالی نوری محصول موردنظر با استفاده از اسپکتروفتومتر و با طول‌موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابي قرار گرفت، علاوه بر این DNA استخراجي بر روي ژل آگارز مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت (شکل ۲) (۲۶).

## واکنش زنجیره پلیمراز و واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای

جهت شناسایی جنس بابزیا در واکنش زنجیره پلیمراز اولیه از آغازگرهاي روبه‌جلو ThBab1 (‘۵ CACAGGGAGGTAGTGACAAG ‘۳) و معکوس ThBab2 (‘۵ CTAAGAATTTCACCTCTGACAG ‘۳) از ژن ۱۸S rRNA که قطعه‌ای در حدود ۴۳۰-۴۰۰ جفت باز را تکثیر می‌کردند استفاده شد (شکل ۳) (۳۶). در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای از محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده شد. در این واکنش برای تکثیر اختصاصی بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس به ترتیب از دو آغازگر روبه‌جلو bigemina(F) (۵`CGTTTTTTCCCTTTTGTTGG`۳) و bovis (F) (۵` CAGGTTTCGCCTGTATAATTGAG`۳) استفاده شد که محصول هر یک از این آغازگرهای اختصاصی با آغازگر معکوس ThBab2 برای بابزیا بایجمینا ۲۰۹ جفت باز و برای بابزیا بوویس ۱۳۲ جفت باز بود (۱۲, ۱۴). کلیه واکنش‌ها در میکروتیوب‌های ۲۰۰ میکرو لیتری و در حجم ۲۵ میکرولیتر به شرح زیر انجام شد: ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (X10)، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیوم (۵۰mM) با غلظت نهایي ۱/۵ میلي مولار، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰mM) با غلظت نهایي ۰/۲ میلي مولار، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر روبه‌جلو (۲۰µM) با غلظت نهایي ۰/۴ میکرو مولار، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر معکوس (۲۰µM) با غلظت نهایي ۰/۴ میکرو مولار، ۰/۱۲۵ میکرولیتر آنزیم DNA پلیمراز Taq (۵U/µL) با غلظت نهایي ۰/۶۲۵ واحد در ۲۵ میکرولیتر، ۱ میکرولیتر DNA الگو مخصوص هر نمونه و ۱۹/۱۲۵ میکرولیتر آب مقطر (دو بار تقطیر استریل). پس از اضافه نمودن مواد مورد نیاز میکروتیوب‌ها به ترموسایکلر (بیو راد تي-۱۰۰، ساخت آمریکا) در ۳۵ چرخه با برنامه دمایي زیر منتقل شد: انکوباسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله دناتوره شدن دو رشته‌ی DNA در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال DNA در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد (دماي اتصال در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصي بابزیا بایجمینا ۵۳ و




شکل ۲- الکتروفورز نمونه‌های DNA استخراج‌شده بر روی ژل آگارز یک درصد، رنگ‌آمیزی شده با رنگ ایمن. مارکر ۱۰۰ جفت‌بازی، چاهک‌های ۲-۶: DNAهای استخراج‌شده مربوط به سلول‌های هسته‌دار خون که با متلاشی شدن سلول‌های قرمز و سفید خون، چنان‌چه ژنوم اجرام بابزیایی تحت‌بررسی نیز در سلول‌های مذکور وجود داشته‌باشد، در DNA استخراجی حضور خواهد یافت.

بابزیا بوویس ۵۸ درجه سانتی‌گراد بود) به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه. پس از اتمام کار دستگاه ترموسایکلر محصولات PCR به همراه رنگ ایمن (سیناکلون، ایران) و نمونه آلوده به بابزیا به عنوان شاهد مثبت و آب مقطر به عنوان شاهد منفی روی ژل آگارز ۱/۵٪ در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه الکتروفورز شد. در مرحله آخر برای مشاهده باندها و عکس‌برداری، ژل در دستگاه تابنده اشعه فرابنفش (ژل داك) قرار گرفت.

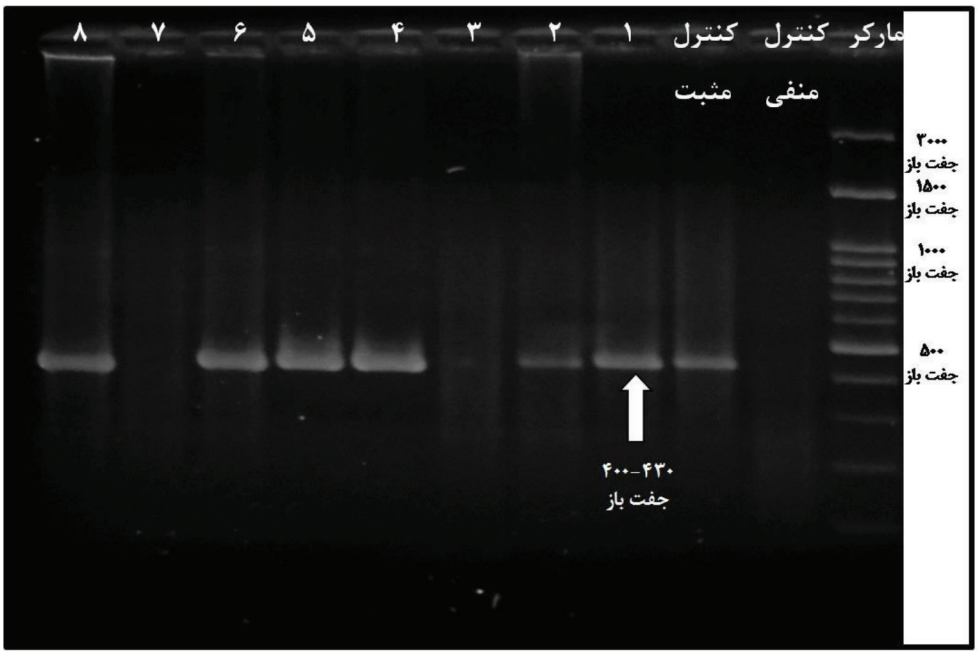
## محاسبات آماری

نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار بسته آماری برای علوم اجتماعی (SPSS) ویرایش بیستم تجزیه‌وتحلیل آماری شدند. برای محاسبه فراوانی داده‌ها و برای پی بردن به اینکه کدام‌یک از فراوانی‌ها با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌داری دارند، از آزمون مربع کای ($\chi 2$) استفاده شد. علاوه بر این براي بررسی عوامل خطر از آنالیزهاي رگرسیون لجستیک تک متغیره و چند متغیره استفاده شد. براي شناسایی مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر شیوع بابزیا بوویس اقدام به آنالیز رگرسیون لجستیک تک متغیره گردید. سپس، عواملی را که به‌طور نسبی ($P<۰/۲$) بر شیوع بابزیا بوویس مؤثر بودند را مشخص نموده و به‌منظور حذف متغیرهاي احتمالی مخدوش‌کننده، آن‌ها را به‌طور هم‌زمان در یک مدل رگرسیون لجستیک چندمتغیره وارد نموده و به حذف مخدوش‌کننده‌های معنی‌دار قبلی مبادرت شد. $\alpha=۰,۰۵$ مبنای قضاوت آماری در نظر گرفته شد.

## نتایج

در واکنش زنجیره پلیمراز و زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصي بابزیا بایجمینا ۴۶ نمونه (۱۷/۸٪) از ۲۵۸ نمونه مورد آزمایش باند موردنظر را تشکیل دادند (شکل ۴). در مقایسه فراوانی گونه بابزیا بایجمینا از نظر تراکم دامداري‌ها (پایین=بیش از ۶ متر مربع به ازاي هر گاو، بالا=کمتر از ۶ متر مربع به ازاي هر گاو) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین فراوانی مربوط به تراکم بالاي دامداري بود ($\chi 2=۴,۲۵۸$, $P=۰,۰۳۹$). در مقایسه فراوانی گونه بابزیا بایجمینا در گاو ازنظر نوع دامداري، اقلیم، ارتفاع از سطح دریا، طول جغرافیایي، عرض جغرافیایي، نوع دامداري از نظر مدیریت، سطح بهداشتي دامداري، حضور کنه روي بدن دام، سم‌پاشي در فصول تکثیر کنه، فاصله با دامداري‌هاي دیگر، تماس با نشخوارکنندگان وحشي، نژاد دام، سن دام و جنس دام اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

در واکنش زنجیره پلیمراز و زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصي بابزیا بوویس ۵۰ نمونه (۱۹/۴٪) از ۲۵۸ نمونه مورد آزمایش باند موردنظر را تشکیل دادند (شکل ۵). در مقایسه فراوانی گونه بابزیا بوویس در گاو بین طول‌هاي جغرافیایي، عرض‌هاي جغرافیایي، نوع دامداري‌ها از نظر مدیریت، سطح بهداشتي دامداري‌ها، حضور کنه روي بدن دام، سم‌پاشي در فصول تکثیر کنه، میزان فاصله با دامداري‌هاي دیگر، تماس با نشخوارکنندگان وحشي، نژاد گاوها و جنس دام‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد($P<۰/۰۵$) و بین اقلیم‌ها، ارتفاع از سطح دریا، تراکم‌هاي مختلف دامداري‌ها و سن دام‌ها اختلاف معني‌داري وجود نداشت




شکل ۳- ژل الکتروفورزشده محصولات واکنش زنجیره پلیمراز اولیه. مارکر ۱۰۰ جفت بازی. چاهک‌های۲-۱، ۶-۴ و ۸: نمونه‌های مثبت تکثیر شده جنس بابزیا.

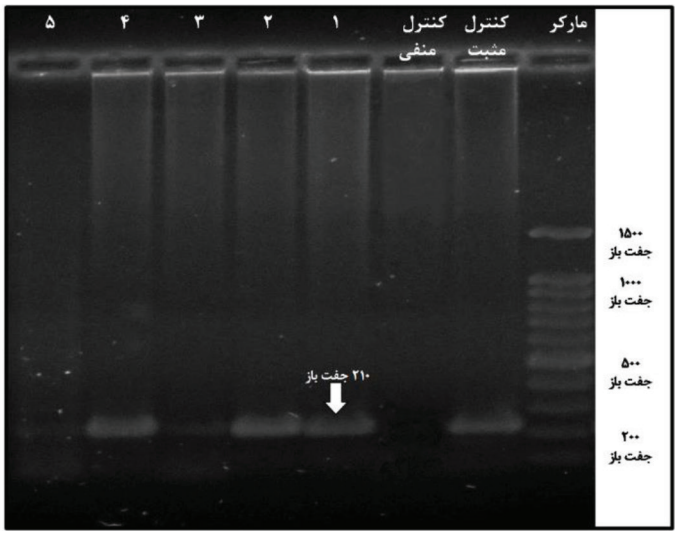
(P>۰/۰۵) (جدول ۱).

در مدل رگرسیون لجستیک چند متغیره، پس از حذف اثر متغیرهاي مخدوش‌کننده نوع دامداري از نظر مدیریت به‌عنوان عامل مؤثر در ابتلا به بابزیا بوویس در گاوها شناسایی شد و مشاهده می‌گردد که پس از تعدیل براي اثر متغیرهاي دیگر نسبت شانس ابتلا به بابزیا بوویس در گاو در دامداري‌هاي سنتي به گاوداري‌هاي نیمه صنعتي ۱۹/۶ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۸۰/۹-۴/۷) مي‌باشد. تراکم در دامداري نیز به عنوان دیگر عامل موثر در ابتلا به بابزیا بوویس درگاوها مي‌باشد که نسبت شانس ابتلا به بابزیا بوویس در گاو در دامداري‌هاي متراکم به دامداري‌هایي که تراکم معمولي داشتند ۵/۲ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۵/۶-۱/۷) مي‌باشد (جدول ۲).

## بحث

بابزیوزیس یکی از بیماری‌های انگلی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است که از راه کنه به گاو انتقال می‌یابد. فراوانی وقوع بیماری در کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری در طول سال متفاوت است و ارتباط مستقیمی با جمعیت و فعالیت کنه‌های ناقل بیماری و حضور دام حساس دارد. در کشورهای معتدل بیماری، چهره فصلی به خود گرفته و با شروع فصل گرما به دلیل افزایش جمعیت و فعالیت کنه، بیماری وقوع یافته و با پیشرفت وضعیت مطلوب محیطی ازنظر درجه حرارت و رطوبت سیر صعودی را نشان می‌دهد(۹). در ایران اکثر مطالعات در مورد بابزیوزیس گوسفندی انجام‌شده است و مطالعات درباره بابزیوزیس گاوي اندك است(۲۹) علاقه محققین به پژوهش در خصوص بابزیوزیس گوسفند در مقایسه با بابزیوزیس گاوی شاید به این خاطر است که گزارش‌ها و تظاهرات بالینی بابزیوزیس در گوسفند بیشتر از گاو بوده است (۱۹). آخرین گزارش بالینی ناشی از بابزیا بوویس که توسط هاشمي فشارکي و امجد مستند شده است به بیش از ۴۰ سال قبل بر مي‌گردد که منجر به تلف شدن ۲۲ گاو در یک گاوداری صنعتی در رشت شده بود(۱۵).

در مطالعه حاضر در مجموع ۳۷/۲٪ (۹۶/۲۵۸) نمونه در در واکنش زنجیره پلیمراز از نظر جنس بابزیا مثبت بودند. در بررسی گسترش‌های خونی گاوهای استان‌های مختلف ایران مقادیر کمتری در مقایسه با این تحقیق به ثبت رسیده است به‌طوری‌که در مازندران ۱۹/۳٪، در آذربایجان غربی ۴/۲٪ و در کردستان ۲/۱٪ گسترش‌های خونی آلوده به بابزیا بوده‌اند(۱۰, ۳۱, ۴۱). به‌طورکلی در یک مقاله مروری و متا آنالیز که حاصل مقالات منتشرشده در خصوص بابزیا از سال ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۵ بود در مجموع درصد شیوع بابزیا در گاوهای ایران ۵/۳٪ گزارش‌شده است (۲۱) که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی ندارد و بسیار کمتر است. اگرچه در اکثر مقالات جمع‌آوری‌شده در این مقاله مروری نیز از روش میکروسکوپی برای تشخیص بابزیا در گسترش‌های خونی استفاده‌شده بود ولی به تعداد فیلدهای میکروسکوپی موردمطالعه اشاره نشده است. با توجه به اینکه تشخیص به روش میکروسکوپی استاندارد نیست و به تبحر آزمایشگر و تعداد فیلدهای مشاهده شد در یک گسترش بستگی دارد لذا با تغییر این عوامل میزان حساسیت این آزمون تغییر خواهد کرد(۱۶). در مطالعه‌ای که در کشور ترکیه بر روی ۱۹۱ نمونه خون گاو با روش میکروسکوپی انجام گرفت ۸/۹٪ گاوها به گونه‌های بابزیا آلوده بودند(۳۵). در کشور عراق در بررسی میکروسکوپی ۹۷ نمونه خون گاو، شیوع بابزیا ۸/۸٪ گزارش شد(۱۷). تحقیقات انجام‌شده در کشورهای همسایه نیز شیوع




شکل ۴- ژل الکتروفورزشده محصولات واکنش زنجیره پلیمراز نیمه آشیانه‌ای بابزیا بایجمینا. مارکر ۱۰۰ جفت بازی. چاهک‌های ۲-۱ و ۴: نمونه‌های مثبت تکثیر شده بابزیا بایجمینا.

جدول ۱- میزان شیوع ملکولي بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس بر حسب برخی عوامل خطر درگاوهاي استان لرستان.

| متغیر | گروه | گاوهاي آزمایش شده | بابزیا بایجمینا | | | بابزیا بوویس | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | تعداد مثبت | درصد | $\chi^2$ - درجه آزادي P-value | تعداد مثبت | درصد | $\chi^2$ -درجه آزادي P-value |
| کل | گاو | ۲۵۸ | ۴۶ | ۱۷/۸ | - | ۵۰ | ۱۹/۴ | - |
| اقلیم | کوهستاني | ۱۳۲ | ۱۸ | ۱۳/۶ | ۱-۳/۲۴۴ | ۲۸ | ۲۱/۲ | ۱-۰/۵۸۱ |
| | جلگه‌ای | ۱۲۶ | ۲۸ | ۲۲/۲ | ۰/۰۷۲ | ۲۲ | ۱۷/۵ | ۰/۴۴۶ |
| ارتفاع از سطح دریا(متر) | ≥۱۵۰۰ | ۱۴۶ | ۲۸ | ۱۹/۲ | ۲-۲/۲۷۱ | ۳۴ | ۲۳/۳ | ۳/۴۸۶ |
| | ۱۵۰۰-۱۰۰۰ | ۷۸ | ۱۰ | ۱۲/۸ | ۰/۳۲۱ | ۱۲ | ۱۵/۴ | ۲ |
| | ≤۱۰۰۰ | ۳۴ | ۸ | ۲۳/۵ | ۱-۰/۸۶۸ | ۴ | ۱۱/۸ | ۰/۱۷۵ |
| طول جغرافیایي (درجه) | ۵۰-۴۸ | ۲۲۴ | ۳۸ | ۱۷ | ۰/۳۵۱ | ۳۴ | ۱۵/۲ | ۱-۱۹/۲۰۲ |
| | ≤۴۷ | ۳۴ | ۸ | ۲۳/۵ | ۲-۵/۱۸۲ | ۱۶ | ۴۷/۱ | <۰/۰۰۱* |
| عرض جغرافیایي (درجه) | ≥۳۶ | ۳۴ | ۸ | ۲۳/۵ | ۰/۰۷۵ | ۱۶ | ۴۷/۱ | ۲۲/۴۴۱ |
| | ۳۵-۳۴ | ۲۰ | ۰ | ۰ | ۱-۰/۲۸۲ | ۰ | ۰.۰۰ | ۲ |
| | ۳۳-۳۲ | ۲۰۴ | ۳۸ | ۱۸/۶ | ۰/۵۹۵ | ۳۴ | ۱۶/۷ | <۰/۰۰۱* |
| نوع دامداري از نظر مدیریت | نیمه صنعتی | ۱۹۴ | ۳۶ | ۱۸/۶ | ۱-۰/۸۶۸ | ۲۶ | ۱۳/۴ | ۱-۱۷/۸۸۷ |
| | سنتي | ۶۴ | ۱۰ | ۱۵/۶ | ۰/۳۵۱ | ۲۴ | ۳۷/۵ | <۰/۰۰۱* |
| نحوه تغذیه | چراي آزاد | ۳۴ | ۸ | ۲۳/۵ | ۱-۰/۸۶۸ | ۱۶ | ۴۷/۱ | ۱-۱۹/۲۰۲ |
| | داخل دامداري | ۲۲۴ | ۳۸ | ۱۷ | ۰/۳۵۱ | ۳۴ | ۱۵/۲ | <۰/۰۰۱* |
| سطح بهداشت دامداري | خوب | ۱۹۴ | ۳۶ | ۱۸/۶ | ۱-۰/۸۶۸ | ۲۶ | ۱۳/۴ | ۱-۱۷/۸۸۷ |
| | پایین | ۶۴ | ۱۰ | ۱۵/۶ | ۰/۳۵۱ | ۲۴ | ۳۷/۵ | <۰/۰۰۱* |
| حضور کنه روي بدن دام | خیر | ۲۲۴ | ۳۸ | ۱۷ | ۱-۰/۸۶۸ | ۳۴ | ۱۵/۲ | ۱-۱۹/۲۰۲ |
| | بله | ۳۴ | ۸ | ۲۳/۵ | ۰/۳۵۱ | ۱۶ | ۴۷/۱ | <۰/۰۰۱* |
| سم پاشي در فصول تکثیر کنه | خیر | ۳۴ | ۸ | ۲۳/۵ | ۱-۰/۲۸۲ | ۱۶ | ۴۷/۱ | ۱-۱۹/۲۰۲ |
| | بله | ۲۲۴ | ۳۸ | ۱۷ | ۰/۵۹۵ | ۳۴ | ۱۵/۲ | <۰/۰۰۱* |
| فاصله با دامداري‌هاي دیگر | ≥۱ کیلومتر | ۳۴ | ۸ | ۲۳/۵ | ۱-۰/۸۶۸ | ۱۶ | ۴۷/۱ | ۱-۱۹/۲۰۲ |
| | <۱ کیلومتر | ۲۲۴ | ۳۸ | ۱۷ | ۰/۳۵۱ | ۳۴ | ۱۵/۲ | <۰/۰۰۱* |
| تماس با نشخوارکنندگان وحشي | خیر | ۲۲۴ | ۳۸ | ۱۷ | ۱-۰/۸۶۸ | ۳۴ | ۱۵/۲ | ۱-۱۹/۲۰۲ |
| | بله | ۳۴ | ۸ | ۲۳/۵ | ۰/۳۵۱ | ۱۶ | ۴۷/۱ | <۰/۰۰۱* |
| تراکم در دامداري | بالا | ۱۶۸ | ۳۶ | ۲۱/۴ | ۱-۴/۲۵۸ | ۳۸ | ۲۲/۶ | ۱-۳/۲۳۴ |
| | معمولي | ۹۰ | ۱۰ | ۱۱/۱ | ۰/۰۳۹* | ۱۲ | ۱۳/۳ | ۰/۰۷۲ |

نسبتاً پایین بابزیا در مقایسه بامطالعه حاضر را گزارش کرده‌اند. حساسیت آزمون میکروسکوپي در مقایسه با آزمون ملکولی بسیار پایین‌تر است بطوري که در تحقیقی حساسیت آزمون میکروسکوپي (مشاهده ۵۰ فیلد میکروسکوپی) در مقایسه با آزمون ملکولی در تشخیص تیلریا ۵۷٪ محاسبه‌شده بود (۲۶) که نتایج این تحقیق نشان‌دهنده حساسیت بالاي آزمون ملکولي نسبت به آزمون میکروسکوپي می‌باشد.

در این تحقیق در واکنش زنجیره پلیمراز و زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصي آلودگی نمونه‌های گاوی ازنظر بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس به ترتیب ۱۷/۸ و ۱۹/۴ درصد تشخیص داده شد. در يك تحقیق در استان آذربایجان غربي گونه‌های بابزیا در گاو با روش واکنش زنجیره پلیمراز شناسایی‌شده‌اند که فراواني نسبي بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در این تحقیق به ترتیب ۰/۶۷٪ و ۸/۲٪ بود که میزان شیوع در مقایسه با تحقیق حاضر بسیار پایین‌تر است(۳۱).

در مطالعه مولکولی گونه‌های بابزیا در گاوهای استان مازندران آلودگی نمونه‌های گاوی از نظر بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس به ترتیب ۳۳/۳۳٪ و ۲۸/۶٪ تعیین گردید(۳۹). همچنین در بررسی شیوع انگل‌های خونی بابزیا بوویس و بابزیا بایجمینا در گاوهای منطقه شمال غرب ایران به روش مولکولی شیوع آلودگی به بابزیا بوویس و بابزیا بایجمینا در گاوهای تحت آزمایش به ترتیب ۲۴/۸٪درصد و ۱/۳٪ ارزیابي شد(۱۳). دو تحقیق اخیر در استان‌هاي مازندران و شمال غرب ایران (آذربایجان شرقي و غربي) با تحقیق حاضر هم‌خواني دارند. در این بررسی‌ها نیز از روش واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای جهت شناسایي گونه استفاده شده است که حساسیت و ویژگي بالاتري نسبت به واکنش زنجیره پلیمراز به تنهایي دارد(۲۳).

در تحقیقات ملکولي دیگر انجام‌شده در ایران به شناسایي جنس بابزیا در گاو بسنده شده است و فراواني جنس بابزیا در چهارمحال و بختیاري ۷٪ و اصفهان ۴٪ گزارش شده است(۲۰). ولي در بررسی‌های ملکولي انجام‌شده در گاوهای شهرهاي تنکابن، رامسر، تربت‌جام، یزد و اصفهان نمونه‌هاي اخذ شده از نظر جنس بابزیا منفي بودند(۸, ۲۵).

در منطقه آسیا فراواني نسبي بابزیا بوویس در پاکستان ۱۸٪ و در سوریه ۱۵/۴۶٪ است که با تحقیق حاضر هم‌خواني دارند ولي فراواني نسبي گزارش‌شده بابزیا بوویس در تایلند( ۳۸/۹٪) و پنجاب هند (۳۰/۳۹٪) بیشتر و در چین (۹/۳٪) کمتر از فراواني تحقیق حاضر(۱۹/۴٪) است (۴, ۷, ۲۴, ۳۷, ۳۸). شیوع فراواني نسبي گزارش‌شده بابزیا بایجمینا در کشورهاي پاکستان (۱۱٪)، سوریه( ۹/۱۸٪) تایلند( ۵/۳٪) و ترکیه( ۹٪ ) کمتر و در چین( ۲۰/۷٪) تقریبا همسان با مطالعه حاضر (۱۷/۸٪) است که نشانه گسترش این‌گونه در این کشور می‌باشد(۴, ۷, ۲۴, ۳۷, ۳۸). تفاوت مشخص در شیوع گونه‌های بابزیا در مناطق و کشورهاي متفاوت ناشي از تنوع گسترش گونه‌های ناقل بابزیا، تفاوت اکولوژیکي، نوع آب‌وهوا، مدیریت گاوداري، مقاومت کنه‌ها به سموم، زمان نمونه‌گیری، جمعیت تحت مطالعه و حساسیت و ویژگي آزمون‌های انتخابي دارد (۳۰).

در این مطالعه نوع دامداري و تراکم دام در دامداري به‌عنوان عامل خطر ابتلای گاوها به بابزیا بوویس شناخته شدند. در دیگر منابع نیز از مدیریت دامداري و تراکم گله بعنوان فاکتورهاي خطر شیوع انگل بابزیا نام برده شده است(۹, ۱۸). بعلت عدم رعایت بسیاری از مسائل مدیریتي و بهداشتی و عدم مبارزه با ناقلین بند پا انتظار می‌رود که درصد شیوع بیماري‌هاي دامي و خصوصا بیماري‌هاي منتقله از کنه در دامداری‌های سنتی به مراتب بیشتر از دامداری‌های نیم صنعتی باشد. در مطالعه انجام‌شده در اصفهان نشان داده‌شده است که با توجه به عدم سمپاشي در دامداري‌هاي سنتي، در اواسط بهار حضور کنه بر روی بدن گاوها افزایش می‌یابد و در تابستان به اوج خود می‌رسد و در پاییز از تراکم حضور کنه بر روی بدن دام کاسته می‌شود؛ بنابراین با توجه به انتقال

ادامه جدول ۱- میزان شیوع ملکولي بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس بر حسب برخی عوامل خطر درگاوهاي استان لرستان.

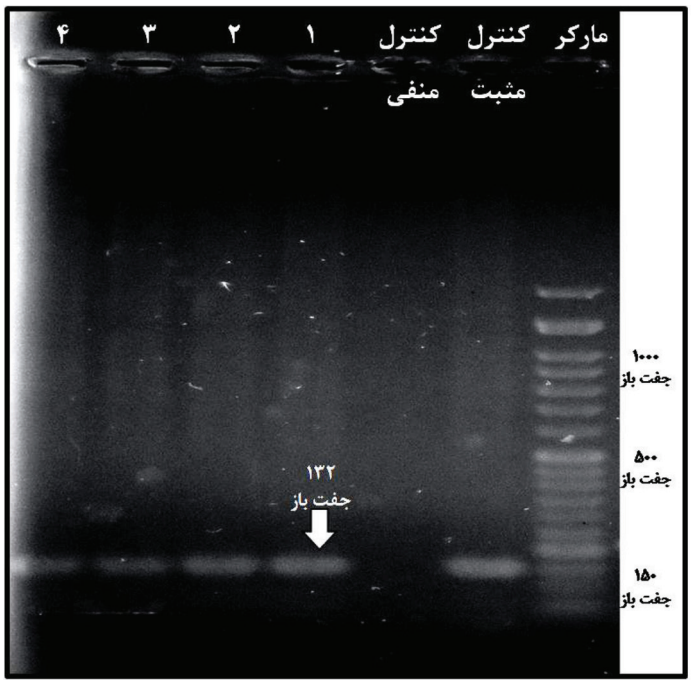
| متغیر | گروه | گاوهاي آزمایش شده | بابزیا بایجمینا | | | بابزیا بوویس | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | تعداد مثبت | درصد | $\chi^2$ - درجه آزادي P-value | تعداد مثبت | درصد | $\chi^2$ -درجه آزادي P-value |
| نژاد دام | دورگ | ۲۱۶ | ۳۸ | ۱۷/۶ | ۱-۰/۰۵۱ | ۳۴ | ۱۵/۷ | ۱-۱۱/۲۴۷ |
| | بومي | ۴۲ | ۸ | ۱۹ | ۰/۸۲۲ | ۱۶ | ۳۸/۱ | <۰/۰۰۱* |
| سن | ۱-۳ سال | ۱۵۶ | ۲۴ | ۱۵/۴ | ۱-۱/۶۱۰ | ۲۸ | ۱۷/۹ | ۱-۰/۵۱۷ |
| | ≤۳ سال | ۱۰۲ | ۲۲ | ۲۱/۶ | ۰/۲۰۵ | ۲۲ | ۲۱/۶ | ۰/۴۷۲ |
| جنس | ماده | ۲۳۰ | ۴۰ | ۱۷/۴ | ۱-۰/۲۷۸ | ۵۰ | ۲۱/۷ | ۱-۷/۵۵۰ |
| | نر | ۲۸ | ۶ | ۲۱/۶ | ۰/۵۹۸ | ۰ | ۰ | ۰/۰۰۶* |

بابزیا بوویس از طریق کنه، ارتباط فراوانی عامل بیماری با نوع دامداري در استان لرستان دور از ذهن نیست(۲۷). عدم رعایت اصول بهداشتی در گاوداری‌های سنتی نه تنها بر سلامت گاو تأثیر می‌گذارد، بلکه به بقای ناقلین کنه‌اي نیز کمك مي‌کند. اکثر دامداري‌ها با شرایط بهداشتی نامناسب دارای ساختمان‌های قدیمی هستند و کنه‌ها قادر به پنهان شدن در شکاف‌های ایجاد شده در این ساختمان‌ها مي‌باشند. شعله دادن یا سموم کنه‌کش نیز نمی‌توانند به عمق این شکاف‌ها برسند و این شکاف‌ها محل امني براي پنهان شدن و تخم‌ریزي کنه‌ها مي‌باشند. در دامداري‌هاي سنتي پوشاندن دیوارهای خشتي با سیمان و تخریب زیستگاه کنه‌ها با پر کردن شکاف‌ها و پوشاندن درزها به کاهش تعداد کنه و عفونت‌های منتقله از طریق کنه کمک می‌کند. علاوه بر این، گاوداري‌هاي سنتي با شرایط بهداشتی نامناسب می‌توانند مستعد هجوم جوندگان باشند زیرا این دامداري‌ها پناهگاه، آب و غذا را برای جوندگان فراهم می‌کنند. علاوه بر خسارات اقتصادی، این جوندگان ممکن است عوامل بیماري‌زا را به طور مستقیم یا غیرمستقیم توسط انگل‌هاي خارجي خود منتقل کنند. جوندگان میزبان اصلی کنه‌ها، به ویژه در مراحل رشد (پوره و لارو) هستند و نقش مخزنی بالقوه برای انگل‌هاي خوني منتقله از کنه دارند(۲). نتایج این تحقیق با تحقیقات انجام‌شده در گاوداري‌هاي اتیوپی، پاکستان، تایلند و برزیل که فراوانی بابزیا با حضور کنه در دامداري‌های سنتی در ارتباط بود مطابقت دارد (۱, ۳, ۱۱, ۱۸).

تراکم دام در جایگاه باعث رقابت بیشتر در تغذیه و استراحت دام شده و استرس افزایش می‌یابد و در نتیجه ایمنی دام در برابر بیماری‌ها مخصوصا بیماری‌های منتقله از کنه کاهش می‌یابد. از طرفی رعایت موازین بهداشتی و مبارزه با ناقلین بند پا نیز در این دامداری‌ها چالش مهمی است که معمولا از عهده دامدار سنتی خارج می باشد(۲۲).

## نتیجه‌گیری کلی

نتیجه کلی این تحقیق نشان می‌دهد که اگرچه تظاهرات بالینی ناشی از بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در استان لرستان نادر است (نبود تظاهرات بالینی می‌تواند ناشی از سویه انگل یا مقاومت ذاتی گاو باشد) ولی میزان شیوع این دو گونه نسبت به یافته‌های دیگر استان‌ها و برخی از کشورهای اطراف ایران بالا است که دام‌های حامل می‌توانند خطر بالقوه انتقال عامل بیماری به کنه‌های ناقل و انتشار بیماری در دام‌های حساس باشند. نوع دامداري و تراکم دام در دامداري به‌عنوان عوامل خطر در این فراوانی مؤثر می‌باشند. جهت کاهش شیوع عامل بیماری، توجه بیشتر به اقدامات بهداشتی و کنترلی لازم است. افزایش آگاهی در گاوداران سنتی (در مورد چرخه زندگی کنه‌ها، فعالیت فصلی و بیماری‌های منتقله از طریق کنه) یک روش موثر و ساده برای کنترل عوامل منتقله از طریق کنه در مدت زمان کوتاه است. در حال حاضر رویکرد کنترلی در برابر بابزیوزیس در گاوهای ایران وجود ندارد زیرا اطلاعات مربوط




شکل ۵- ژل الکتروفورزشده محصولات واکنش زنجیره پلیمراز نیمه آشیانه‌ای بابزیا بوویس. مارکر ۵۰ جفت بازی. چاهک‌های ۴-۱: نمونه‌های مثبت تکثیر شده بابزیا بوویس.

به اپیدمیولوژی، اکولوژی، بیماری‌شناسی، علائم بالینی و انگل‌شناسی این بیماری محدود است. بابزیوزیس اغلب به دلیل شیوع پایین یا تظاهرات بالینی مشترک با دیگر بیماری‌ها مورد توجه دامپزشکان قرار نمی‌گیرد، ولی دام‌های درگیر، ناقل باقی می‌مانند. بابزیوزیس انسانی ناشی از بابزیا بوویس هنوز در ایران شناسایی یا تأیید نشده است. که می‌تواند به دلیل شباهت تظاهرات بالینی بیماری با سایر بیماری‌های تب‌دار انسان باشد. تحقیق در خصوص شناسایی کنه‌های ناقل، حیوانات مخزن و پتانسیل مشترک بودن عوامل بیماری بین دام و انسان در منطقه ضروری بنظر می‌رسد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تقدیر و تشکر انجام می‌شود.

## منابع مورد استفاده

1- Abdela, N., N. Ibrahim and F. Begna. 2018. Prevalence, risk factors and vectors identification of bovine anaplasmosis and babesiosis in and around Jimma town, Southwestern Ethiopia. *Acta Tropica.* 177: 9-18.

2- Aktas, M. and S. Ozubek. 2015. Molecular and Parasitological survey of bovine piroplasms in the Black Sea region, including the first report of babesiosis associated with Babesia divergens in Turkey. *Journal of Medical Entomology.* 52: 1344-1350.

3- Amorim, L. S., A. A. Wenceslau, F. S. Carvalho, P. L. S. Carneiro and G. R. Albuquerque. 2014. Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 23: 328-336.

4- Bhat, S., H. Singh, N. Singh and S. Rath. 2015. Molecular detection of *Babesia bigemina* infection in apparently healthy cattle of central plain zone of Punjab. *Journal of Parasitic Diseases* 39: 649-653.

5- Bloch, E. M., T. H. Lee, P. J. Krause, S. R. Telford III, L. Montalvo, D. Chafets, S. Usmani-Brown, T. J. Lepore and M. P. Busch. 2013. Development of a real time polymerase chain reaction assay for sensitive detection and quantitation of *Babesia microti* infection. *Transfusion* 53: 2299-2306.

6- Bock, R., L. Jackson, A. De Vos and W. Jorgensen. 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitology* 129: S247-S269.

7- Chaudhry, Z., M. Suleman, M. Younus and A. Aslim. 2010. Molecular detection of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in crossbred carrier cattle through PCR. *Pakistan Journal of Zoology* 42.

8- Cheshti, B., G. Razmi and A. NaghibI. 2013. A comparative study on haemoprotozoa infection in apparently healthy cattle in different geographical areas of Iran using PCR method.

9- Dantas-Torres, F., L. C. Alves and G. Uilenberg. Section. 2017. Babesiosis. 347-354. *Arthropod Borne Diseases*. Springer;

10- Fakhar, M., A. Hajihasani, S. Maroufi, H. Alizadeh, H. Shirzad, F. Piri and A. S. Pagheh. 2012. An epidemiological survey on bovine and ovine babesiosis in Kurdistan Province, western Iran. *Tropical Animal Health and Production* 44: 319-322.

11- Farooqi, S. H., M. Ijaz, M. I. Rashid, A. I. Aqib, Z. Ahmad, M. H. Saleem, K. Hussain, S. Islam, H. Naeem and A. Khan. 2017. Molecular epidemiology of *Babesia bovis* in bovine of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Pak Vet J* 37: 275-280.

جدول ۲- فراوانی و عوامل خطر مرتبط با شیوع مولکولی بابزیا بوویس در گاوهای استان لرستان با استفاده از رگرسیون لجستیک چند متغیره.

| متغیر | گروه | تعداد گاو مورد آزمایش | موارد مثبت | | نسبت شانس تعدیل‌شده | | P value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | تعداد | درصد | مقدار | فاصله اطمینان ۹۵ درصد حداقل-حداکثر | |
| نوع دامداری از نظر مدیریت | نیمه‌صنعتی* | ۱۹۴ | ۲۶ | ۱۳/۴ | ۱ | - | - |
| | سنتی | ۶۴ | ۲۴ | ۳۷/۵ | ۱۹/۶ | ۴/۷-۸۰/۹ | <۰/۰۰۰۱ |
| تراکم در دامداری | بالا* | ۱۶۸ | ۳۸ | ۲۲/۶ | ۱ | - | - |
| | معمولی | ۹۰ | ۱۲ | ۱۳/۳ | ۵/۲ | ۱/۷-۱۵/۶ | ۰/۰۰۳ |

*گروه مرجع: گروهی که به علت دارا بودن بیش‌ترین تعداد نمونه در متغیر مربوطه، به عنوان پایه در نظر گرفته‌شده و دیگر گروه‌ها با آن مقایسه شده اند.

12- Georges, K., G. R. Loria, S. Riili, A. Greco, S. Caracappa, F. Jongejan and O. Sparagano. 2001. Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Veterinary Parasitology.* 99: 273-286.

13- Ghadimipour, R., V. Noaman and M. Taghizadeh. 2020. Prevalence and risk factors of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle in northwestern Iran. *Veterinary Clinical Pathology* .14: 155-168.

14- Gubbels, J., A. De Vos, M. Van der Weide, J. Viseras, L. Schouls, E. De Vries and F. Jongejan. 1999. Simultaneous Detection of Bovine*Theileria* and *Babesia* Species by Reverse Line Blot Hybridization. *Journal of Clinical Microbiology.* 37: 1782-1789.

15- Hashemi-Fesharki, R. and A. Amjadi. 1977. Outbreak of *Babesia bovis* infection in cattle and its control. *Archives of Razi Institute.* 29: 83-86.

16- Hussain, S., K. Ashraf, N. Anwar, M. Jamal, H. Naeem, N. Ahmad and A. Rahman. 2017. Diagnosis of *babesia bovis* infection in indigenous and crossbred cattle with comparison between conventional and molecular diagnostic techniques. *J Inf Mol Biol.* 5: 1-6.

17- Ibrahim, O., Z. Taha and S. Jassim. 2012. Prevalence of *Babesia bovis* in cattle in Tikreet city and its surroundings with hematological study. *Tikrit Journal of Pure Science.* 17: 32-34.

18- Jirapattharasate, C., P. F. A. Moumouni, S. Cao, A. Iguchi, M. Liu, G. Wang, M. Zhou, P. Vudriko, T. Changbunjong and S. Sungpradit. 2016. Molecular epidemiology of bovine *Babesia* spp. and *Theileria orientalis* parasites in beef cattle from northern and northeastern Thailand. *Parasitology International.* 65: 62-69.

19- Kalani, H., M. Fakhar and A. Pagheh. 2012. An overview on present situation babesiosis and theileriosis and their distribution of ticks in Iran. *Iranian Journal of Medical Microbiology.* 5: 59-71.

20- Khamesipour, F., A. Doosti, A. Koohi, M. Chehelgerdi, A. Mokhtari-Farsani and A. A. Chengula. 2015. Determination of the presence of Babesia DNA in blood samples of cattle, camel and sheep in Iran by PCR. *Arch Biol Sci Belgrade.* 63: 83-90.

21- Motavalli-Haghii, M., F. Etemadifar, M. Fakhar, S. H. Teshnizi, M. Soosaraei, A. Shokri, A. Hajihasani and H. Mashhadi. 2017. Status of babesiosis among domestic herbivores in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Parasitology Research.* 116: 1101-1109.

22- Muhanguzi, D., E. Matovu and C. Waiswa. 2010. Prevalence and characterization of *Theileria* and *Babesia* species in cattle under different husbandry systems in western Uganda. *International Journal of Animal and Veterinary Advances.* 2: 51-58.

23- Nayel, M., K. M. El-Dakhly, M. Aboulaila, A. Elsify, H. Hassan, E. Ibrahim, A. Salama and T. Yanai. 2012. The use of different diagnostic tools for *Babesia* and *Theileria* parasites in cattle in Menofia, Egypt. *Parasitology Research.* 111: 1019-1024.

24- Niu, Q., Z. Liu, P. Yu, J. Yang, M. O. Abdallah, G. Guan, G. Liu, J. Luo and H. Yin. 2015. Genetic characterization and molecular survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Babesia ovata* in cattle, dairy cattle and yaks in China. *Parasites & Vectors.* 8: 518.

25- Noaman, V. 2013. A molecular study on Theileria and Babesia in cattle from Isfahan province, Central Iran. *Journal of Parasitic Diseases.* 37: 208-210.

26- Noaman, V. 2014. Comparison of molecular and microscopic technique for detection of *Theileria spp*. in carrier cattle. *Journal of Parasitic Diseases.* 38: 64-67.

27- Noaman, V., M. Abdigoudarzi and A. Nabinejad. 2017. Abundance, diversity, and seasonal dynamics of hard ticks infesting cattle in Isfahan Province, Iran. *Archives of Razi Institute.* 72: 15-21.

28- Noaman, V., R. Ghadimipour and R. Nabavi. 2021. First report of *Babesia occultans* in two symptomatic cows in Iran. *Parasitology Research.* 120: 1915-1919.

29- Noaman, V., A. A. Jahangirnejad and A. Nabinejad. 2005. A study on prevalence and identification of *Babesia spp*. in immigrant and sheep & goats and nomadic people of Isfahan Province. *Pajouhesh – Va- sazandegi.* 67: 35-41 (In Persian).

30- OIE. Section. 2012. Bovine anaplasmosis, Section 2.4. Bovinae. 589-600. World Organization for Animal Health OIE terrestrial manual Paris, France.

31- Rajabi, S., B. Esmaeilnejad and M. Tavassoli. 2017. A molecular study on *Babesia* spp. in cattle and ticks in West-Azerbaijan province, Iran. Veterinary Research Forum. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. p. 299-306.

32- Ristic, I. and I. McIntyre. 2013. Diseases of Cattle in the Tropics: Economic and Zoonotic Relevance. illustrated ed. Springer Netherlands.

33- Romero-Salas, D., A. Mira, J. Mosqueda, Z. García-Vázquez, M. Hidalgo-Ruiz, N. A. O. Vela, A. A. P. de León, M. Florin-Christensen and L. Schnittger. 2016. Molecular and serological detection of *Babesia bovis*-and *Babesia bigemina*-infection in bovines and water buffaloes raised jointly in an endemic field. *Veterinary Parasitology.* 217: 101-107.

34- Schnittger, L., A. E. Rodriguez, M. Florin-Christensen and D. A. Morrison. 2012. *Babesia*: a world emerging. *Infection, Genetics and Evolution.* 12: 1788-1809.

35- Sevgili, M., A. Cakmak, A. Gokcen, M. G. Altas and G. Ergun. 2010. Prevalence of *Theileria annulata* and *Babesia bigemina* in cattle in the vicinity of Sanliurfa. *Journal of Animal and Veterinary Advances.* 9: 292-296.

36- Shayan, P. and S. Rahbari. 2005. Simultaneous differentiation between *Theileria* spp. and *Babesia* spp. on stained blood smear using PCR. *Parasitology Research* 97: 281-286.

37- Simking, P., N. Yatbantoong, N. Saetiew, S. Saengow, W. Yodsri, R. Chaiyarat, S. Wongnarkpet and S. Jittapalapong. 2014. Prevalence and risk factors of *Babesia* infections in cattle trespassing natural forest areas in Salakpra Wildlife Sanctuary, Kanchanaburi Province. *Journal of Tropical Medicine and Parasitology*. 37: 10-19.

38- Terkawi, M. A., H. Alhasan, N. X. Huyen, A. Sabagh, K. Awier, S. Cao, Y.-K. Goo, G. Aboge, N. Yokoyama and Y. Nishikawa. 2012. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from central region of Syria. *Veterinary Parasitology*. 187: 307-311.

39- Vahedi Nouri, N. and V. Noaman. 2020. The molecular study of *babesia* species in the cattles of Mazandaran province. *Journal of Animal Biology*. 12: 81-90.

40- Yusuf, J. J., P. Jimma and T. Ethiopia. 2017. Review on Bovine Babesiosis and its Economical Importance. *J Vet Med Res*. 4: 1090.

41- Ziapour, S. P., B. Esfandiari and M. R. Youssefi. 2011. Study of the prevalence of babesiosis in domesticated animals with suspected signs in Mazandaran province, north of Iran, during 2008. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 10: 712-714.